DOI:10.11931/guihaia.gxzw201906041

CygoSTK 基因在普通春兰与奇花品种'天彭牡丹'中的表达比较

夏胜应，刘志雄*

（长江大学 园艺园林学院，湖北 荆州 434025）

摘要：为深入研究春兰(*Cymbidium goeringii*)与奇花品种花器官发育调控的分子机制，用同源克隆方法，分别从普通春兰与春兰奇花品种'天彭牡丹'的花芽中克隆得到 1 个 cDNA 长为 849 bp D 类 MADS-box 基因 *CygoSTK*(Genbank 登录号为 MH917912.1)，该基因序列在 2 种春兰中高度一致，包含 1 个长 705 bp 的完整 ORF，编码 1 个由 234 个氨基酸残基组成的 STK 进化系 MADS-box 转录因子。结构分析表明：CygoSTK 转录因子包含 1 个高度保守的 MADS 结构域(MADS domain)(1~57)和 1 个次级保守的 K 结构域(91~172)，其 C 末端的转录激活区含有两个高度保守的基序：AGI 基序和 AGII 基序。进一步用 qPCR 检测 *CygoSTK* 基因在春兰与奇花品种'天彭牡丹'不同花器官中的相对表达量发现 *CygoSTK* 在普通春兰和'天彭牡丹'子房中的表达量最高，显著高于该基因在相应品种其他花器官中的表达量（*LSD*，*P* <0.05）。该研究结果表明 *CygoSTK* 基因在功能上有很强的保守性，主要参与春兰子房的发育。

关键词：春兰(*Cymbidium goeringii*)，*CygoSTK* 基因，MADS-box，花发育，实时荧光定量

中图分类号：Q943.2　　　　　　　**文献标识码**：A

Expression comparison of *CygoSTK* gene in *Cymbidium goeringii* and abnormal flower variety 'Tian Peng Mu Dan'

XIA Shengying, LIU Zhixiong*

(*College of Horticulture and Gardening, Yangtze University*, Jingzhou 434025, Hubei, China)

Abstract: In order to uncover the molecular mechanism of flower organ development regulation of *C. goeringii* and varieties with abnormal flower, a cDNA was cloned from the flower buds of the common *C. goeringii* and *C. goeringii* 'Tian Peng Mu Dan' by homologous cloning method. The 849 bp D-class MADS-box gene CygoSTK (Genbank accession number is MH917912.1), which is high identity in *C. goeringii* and *C. goeringii* 'Tian Peng Mu Dan', contains a 705 bp complete ORF, encoding 234 amino acid residues. Protein alignment and a phylogenetic tree grouped CygoSTK into the STK lineage. Structural analysis indicated that CygoSTK transcription factor contains a highly conserved MADS domain (1-57) and a secondary conserved K domain (91-172). In addition, the C-terminal transcriptional activation region of CygoSTK contains two highly conserved motifs: AGI motif and AGII motif. Furthermore, the relative expression of *CygoSTK* gene in different floral organs of *C. goeringii* and *C. goeringii* 'Tian Peng Mu Dan' was detected by qPCR. Our data suggested that *CygoSTK* expression was the highest in the ovary of common *C. goeringii* and *C. goeringii* 'Tian Peng Mu Dan', which was significantly higher than that of the other floral organs (*LSD, P <0.05*). Our results indicate that the function of *CygoSTK* gene is highly conserved and *CygoSTK* is mainly involved in regulating the ovary development of *C. goeringii*.

Keywords: *Cymbidium goeringii*, *CygoSTK* gene, MADS-box, development, real-time quantitative PCR

春兰(*Cymbidium goeringii*)是兰科(Orchidaceae)兰属(*Cymbidium*)地生兰类植物，又名朵兰、扑地兰、幽兰、朵朵香、草兰，在我国有 2 000 多年的栽培历史，是人们最为喜欢的国兰种类之一（Xiang et al., 2018）。野生春兰主要分布在我国长江流域及西南地区，在日本和朝鲜半岛也均有分布（陈君梅等，2016）。春兰叶片飘逸、花姿高雅、花色素淡、香气清幽、具有较高的观赏价值和经济价值，深受东南亚人们的喜爱(Han

基金项目：国家自然科学基金（31101202）[Supported by the National Natural Science Foundation of China(31101202)]。

作者简介：夏胜应(1994-)，男，陕西安康人，硕士，主要从事园林植物种质资源与利用研究，（E-mail）925431216@qq.com。

***通信作者**：刘志雄，博士，副教授，主要从事植物发育遗传与种质创新研究，（E-mail）zxliu77@yahoo.com。

et al., 2018; Zuo et al., 2017)。我国春兰栽培历史悠久，自然变异类型丰富，积累了许多以花色、瓣型、花型、叶艺等形色各异的名贵种质资源，并形成了深厚的养兰赏兰文化。开发和选育观赏价值高的春兰新品种，对丰富我国春兰种质资源，弘扬和传播国兰文化等均具有重要的科学意义和经济价值。春兰奇花因其资源稀有和花型独特成为春兰爱好者长期追捧的目标，也是春兰育种的重要方向之一。

在春兰传统铭品中，'天彭牡丹'作为牡丹型奇花的代表，其唇瓣增多，合蕊柱无药帽，由于开花后酷似牡丹而备受国人青睐。前人对兰科(Orchidaceae)植物意大利红门兰(*Orchis italica*)的研究发现，其*SEEDSTICK*(*STK*)同源基因*OitaSTK*对维持合蕊柱、胚珠和唇瓣的形态的正常发育有重要的作用(Salemme et al., 2013)。而在拟南芥中，*STK*是参与调控胚珠和种子正常发育的D类MADS-box基因，主要在胚珠和种子中表达(Hundertmark et al., 2008)。研究春兰花器官发育的*STK*基因的表达模式和功能，一方面有助于解析春兰花器官形态建成分子基础，为春兰的花型改良和分子育种集累基因资源，另一方面为研究兰科植物的花型演变积累资料。本研究以普通春兰，春兰奇花品种'天彭牡丹'为试验材料，在克隆其D类MADS-box基因*CygoSTK*的基础上，通过比较该基因在2个春兰品种花器官中表达模式的差异，分析该基因的表达差异与花型变异的相互关系，以期解析*CygoSTK*基因参与春兰花发育调控的分子机制。

1　材料与方法

1.1　实验材料

春兰、春兰奇花品种'天彭牡丹'引种后种植于湖北荆州长江大学园艺园林学院人工气候室。2018年1月份分别取当天开花的花朵，剥取春兰的花萼、花瓣、唇瓣、花粉块、合蕊柱和子房；'天彭牡丹'的花萼、花瓣、唇瓣、合蕊柱和子房，将其按组织分开，取样后迅速放于液氮中速冻，于-80 ℃冰箱中保存备用。

1.2　实验方法

1.2.1 春兰RNA的分离和第一链cDNA合成

采用EASY spin Plus多糖多酚复杂植物RNA快速提取试剂盒（北京艾德莱生物科技有限公司）分别提取春兰与'天彭牡丹'花芽的总RNA，用M-MLV逆转录酶（TaKaRa）合成第一链cDNA，反应体系和操作按说明书上进行。

1.2.2 春兰*CygoSTK*基因的克隆

根据Genbank中已公布的兰科植物STK同源基因的5′非翻译区（5′ untranslation region, 5′UTR）和3′UTR的保守序列设计春兰STK同源基因引物（表1），进行春兰STK同源基因的全长扩增，扩增程序和阳性克隆的鉴定参考刘志雄和于先泥(2012)的方法。引物合成和测序均由生工生物工程（上海）股份有限公司完成。

表1　引物名称及序列

Table1 Primer name and sequences

物名称 Primer name	序列（5′→ 3′） Sequence（5′→ 3′）	用途 Function
GSPSTK-F	CAACGACGAGATGCACTTCTCTG	PCR
CygoSTK-R	CTGTAGCAAGACGCCTTAATGAC	PCR
Actin-F	ATTCAGCCTCTAGTTTGCGATAA	*Actin* qPCR
Actin-R	CAGCAAATCCAGCCTAACAAATG	*Actin* qPCR
qCygoSTK-F	TTGAGTATATGCAGAAACGAGAA	*CygoSTK* qPCR
qCygoSTK-R	TTGAGTCGAAGGTTGGAAGGGTC	*CygoSTK* qPCR

1.2.3 *CygoSTK*基因序列结构分析

将分离得到的春兰*CygoSTK*基因完整开放阅读框（Open Reading Frame, ORF）编码的蛋白在NCBI网页上执行BlastP（https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi）同源搜索比对，选取来自不同被子植物的20个

STK 同源蛋白（表 2），采用 MEGA5.0 软件的邻接法（NJ）构建蛋白序列的分子系统发育树。同时，选取拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）的 STK、矮牵牛（*Petunia×hybrida*）的 FBP7、FBP11 和球花石斛（*Dendrobium thyrsiflorum*）等 8 个物种的 9 个 STK 同源蛋白（表 3），用 BioEdit7.2 软件中的 ClustalW 程序进行序列比对，进一步分析 CygoSTK 蛋白的结构域。

表 2 构建分子系统发育树的 STK 同源蛋白

Table 2 STK homologous proteins for phylogenetic tree construction

蛋白质名称 Protein name	种名 Species	登录号 Accession number
STK	拟南芥 *Arabidopsis thaliana*	NP_192734.1
FBP7	矮牵牛 *Petunia×hybrida*	CAA57311.1
FBP11	矮牵牛 *Petunia× hybrida*	CAA57445.1
HoMADS1	风信子 *Hyacinthus orientalis*	AAF08830.1
OritAG2	红门兰 *Orchis italica*	AFU81322.1
DthyrAG2	石斛兰 *Dendrobium thyrsiflorum*	ABQ08574.1
AG	拟南芥 *Arabidopsis thaliana*	NP_567569.1
SHP1	拟南芥 *Arabidopsis thaliana*	AAA32730.1
SHP2	拟南芥 *Arabidopsis thaliana*	AAA32735.1
PrpeSTK	桃 *Prunus persica*	ABQ85556.1
PravSTK	樱桃 *Prunus avium*	AEH41428.1
MaMADS1	小果野蕉 *Musa acuminata*	AAY53908.1
NAG1	烟草 *Nicotiana tabacum*	AAA17033.1
TAG1	番茄 *Solanum lycopersicum*	AAA34197.1
CeMADS1	建兰 *Cymbidium ensifolium*	ADP00515.1
FBP6	矮牵牛 *Petunia×hybrida*	CAA48635.1
PLE	金鱼草 *Antirrhinum majus*	AAB25101.1
LLAG1	铁炮百合 *Lilium longiflorum*	AAR98733.1
PrseSTK	日本晚樱 *Prunus serrulata*	ADD91578.1
CygoSTK	春兰 *Cymbidium goeringii*	MH917912.1

表 3 构建不同物种 STK 同源蛋白比对的序列

Table 3 Construction of sequences for alignment of different species of STK homologous proteins

蛋白质名称 Protein name	种名 Species	登录号 Accession number
CygoSTK	春兰 *Cymbidium goeringii*	
DthyrAG2	球花石斛 Dendrobium *thyrsiflorum*	AAY86365
HoMADS1	风信子 Hyacinthus *orientalis*	AAF08830
OritAG2	红门兰 *Orchis italica*	AFU81322
AVAG2	天门冬 Asparagus *virgatus*	BAD83772
LMADS2	铁炮百合 *lilium longiflorum*	AAS01766
ApMADS2	百子莲 Agapanthus *praecox*	BAC66963
STK	拟南芥 *Arabidopsis thaliana*	NP_192734
FBP7	矮牵牛 Petunia×*hybrida*	CAA57311
FBP11	矮牵牛 Petunia×*hybrida*	CAA57445

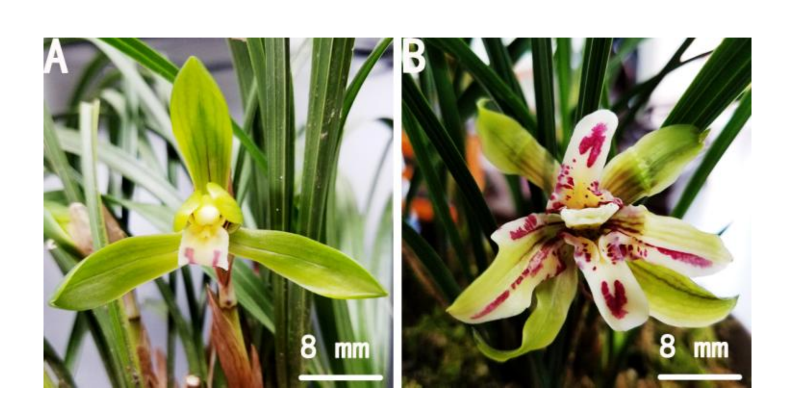
1.2.4 *CygoSTK* 基因的表达分析

在 *CygoSTK* 基因的非保守区域设计引物，并以春兰的 *CygoActin*(GU181354.1)为内参基因，设计内参基因引物，检测引物的特异性后，用实时荧光定量 PCR 技术（quantitative real time PCR，qPCR）检测 *CygoSTK* 基因在春兰不同花器官中表达的组织特异性，引物序列见表 1。qPCR 在 CFX96（BIO-RAD，美国）荧光定量 PCR 仪上进行，反应体系 20 uL：ChamQ SYBR qPCR Master Mix 10 μL、上下游引物各 0.4 μL，cDNA 模板 0.4 μL，ddH_2O 8.6 μL。反应程序：95 ℃ 1min，95 ℃ 10 s，60 ℃ 15 s，40 个循环。实时荧光定量采用 ChamQ SYBR qPCR Master Mix 试剂盒购置于南京诺维赞生物科技有限公司，基因的相对表达量按照 $2^{-\triangle\triangle Ct}$ 法计算。并用 SPSS17.0 软件对数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 2 种春兰花结构分析

普通春兰的花由 3 枚花萼、2 枚花瓣、1 枚特化的唇瓣、2 个花药构成的花粉块、1 个合蕊柱和 1 个由 3 心皮合生的子房组成，其中花粉块着生于合蕊柱上。‘天彭牡丹’的花有 4 个花萼、花瓣 2 至多数，唇瓣 2 至多数，合蕊柱顶端无花粉块，子房外观形态正常(图 1)。



注：**A**. 春兰；**B**. 春兰‘天彭牡丹’。

Note: **A**. *Cymbidium goeringii*；**B**. *C.goeringii* ‘Tian Peng Mu Dan’.

图 1　两种春兰

Fig.1 Two kinds of *Cymbidium goeringii*

2.2 春兰 *CygoSTK* 基因全长 cDNA 序列的克隆

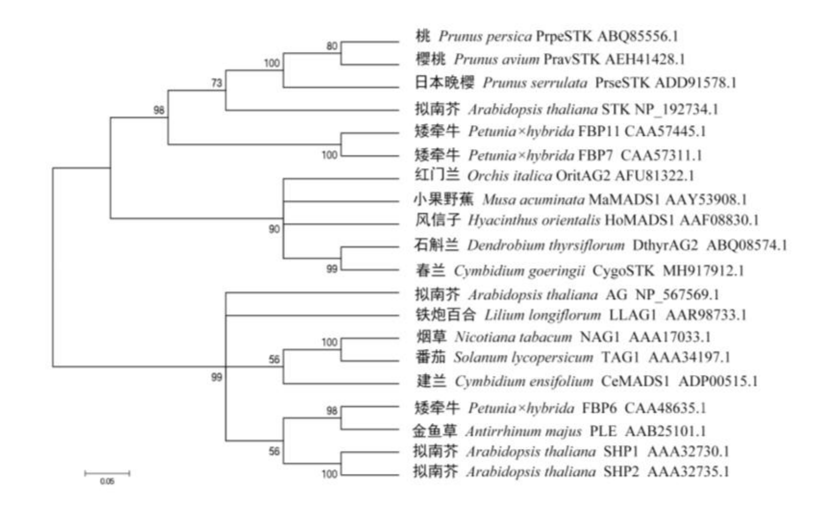
春兰 *CygoSTK* 基因 cDNA 序列全长 849 bp，包含 1 个长 111 bp 的 5′UTR，1 个长 705 bp 的 ORF，编码 1 个含 234 个氨基酸残基的 STK-like 转录因子和 1 个终止密码子，同时该序列还包含 1 个长 33 bp 的 3′非翻译区。命名为 *CygoSTK*，Genbank 登录号为 MH917912.1。序列结构分析表明，2 个品种中克隆得到的 *CygoSTK* 基因碱基序列完全一致。

2.3 蛋白同源序列比对与分子系统发生分析

分子系统发生分析与进化树重建（图 2）表明：CygoSTK 转录因子与 9 个被子植物共 10 个 STK 同源蛋白共聚于 STK 进化系，是拟南芥 STK 直系同源蛋白，其与拟南芥的 STK 转录因子的序列相似性为 57.87%，该转录因子与单子叶植物的 STK 同源蛋白聚于 1 个小的进化分支，其与兰科植物球花石斛 STK 同源蛋白 DthyrAG2 的亲缘关系最近，序列相似性高达 88.46%，物种间的演化关系在进化树上得到了很好的支持。

蛋白同源序列比对（图 3）显示：CygoSTK 转录因子具有 1 个高度保守的 MADS 结构域（MADS domain）（1~57），1 个次级保守的 K 结构域（91~172），1 个保守性较低的 I 区（58~90）。其 M 区有 57 个氨基

酸，I 区有 33 个氨基酸，K 区有 82 个氨基酸，C 区有 62 个氨基酸，其 C 末端的转录激活区含有两个高度保守的基序：AGI 基序和 AGII 基序，并且我们还在该蛋白的最末端发现了单子叶植物 D 类蛋白特有的 MD 基序(图 3)。该结果进一步证实 CygoSTK 蛋白属于 MADS-box 基因家族中的 D 类蛋白。

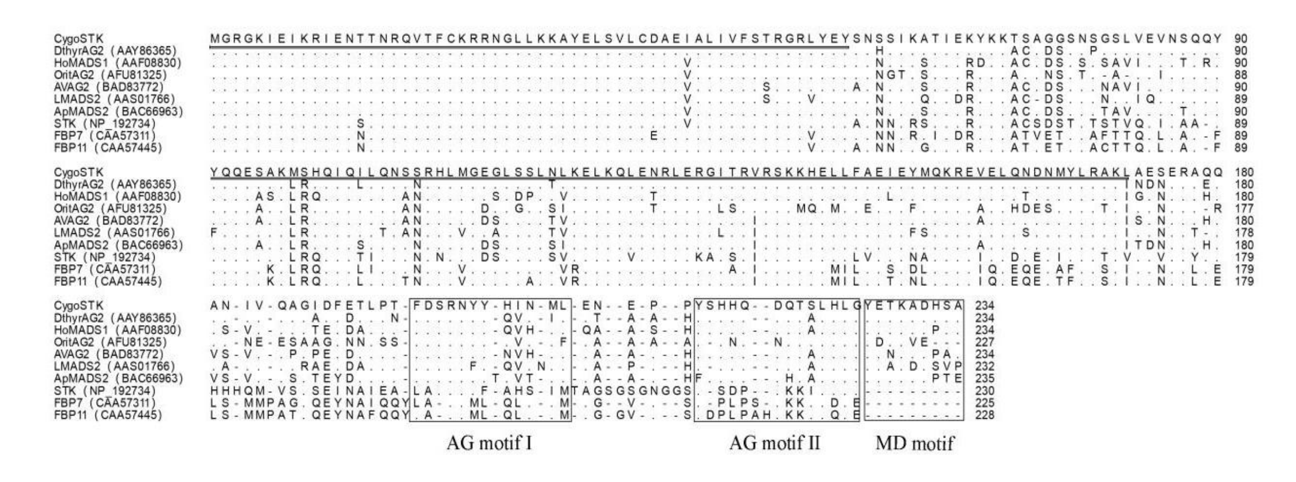


注：分支上的数字表示执行 1 000 次重复计算获得的自展百分比。标尺代表遗传距离。

Note: The number represents the Bootstrap percentage values calculated by 1 000 replicates. The scale bar represents genetic distance.

图 2 CygoSTK 与其他植物 STK-like 蛋白的分子系统发生分析

Fig.2 Phylogenetic analysis of CygoSTK with other STK-like proteins from different angiosperm taxa



注：第 1 个下划线代表 M 区，第 2 个下划线代表 K 区，M 区和 K 区之间是 I 区；AGI 基序、AGII 基序和 MD 基序用方框标出。

Note: The first underline represents the M region, the second underline represents the K region, and the M region and the K region are between the I region; AGI motif, AGII motif and MD motif are boxed.

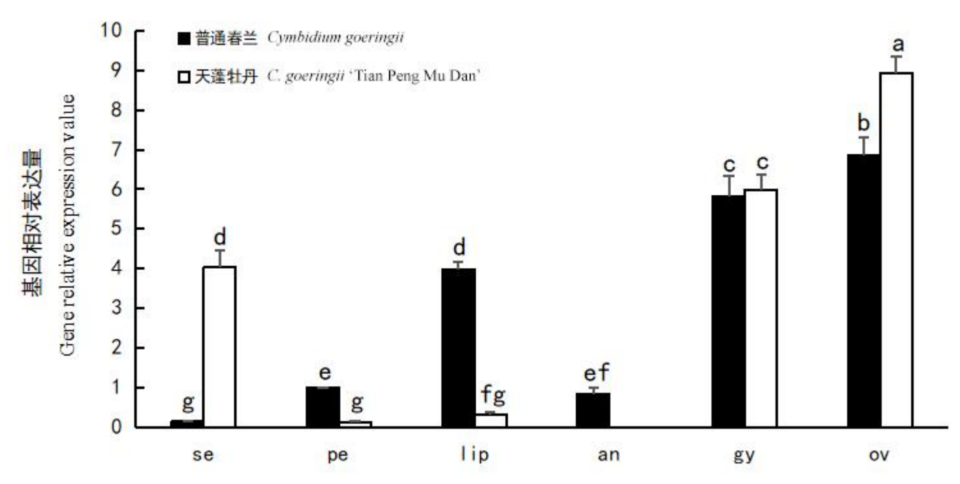
图 3 CygoSTK 与其他物种 D 类 MADS-box 蛋白间的比较

Fig.3 Alignment of CygoSTK with other D-class MADS-box homologous proteins

2.4 春兰 *CygoSTK* 基因在花器官中表达的组织特异性分析

qPCR 检测分析显示（图 4）：*CygoSTK* 基因主要在春兰的花瓣、唇瓣、花粉团、合蕊柱和子房中表达，在花萼中仅能检测到微弱的转录信号；其在子房中的表达量最高，均显著高于其在其他花器官中的表

达（*LSD*，*P*＜0.05），在合蕊柱中的表达量其次，但均显著高于其在花瓣、唇瓣和花粉团中的表达量（*LSD*，*P*＜0.05）；同时，*CygoSTK* 基因在唇瓣中的表达量也显著高于花瓣和花粉团（*LSD*，*P*＜0.05），但其在花粉团中的表达与花瓣中的表达量无显著差异。在‘天彭牡丹’中，*CygoSTK* 基因主要在花萼、唇瓣、合蕊柱和子房中表达，在花瓣中仅能检测到微弱的转录信号；同普通春兰类似，*CygoSTK* 基因在子房中的表达量最高，均显著高于其他花器官（*LSD*，*P*＜0.05），其在合蕊柱中的表达量次之，显著高于花萼和唇瓣（*LSD*，*P*＜0.05），同时，其在花萼中的表达量也显著高于唇瓣（*LSD*，*P*＜0.05）。从 *CygoSTK* 基因在 2 种春兰同类花器官表达的差异来看，*CygoSTK* 基因在‘天彭牡丹’的花萼中有明显的表达，但在普通春兰花萼中仅能检测微弱的转录信号；而该基因在普通春兰的花瓣中有明显的表达，但在‘天彭牡丹’花瓣中仅能检测到微弱的转录信号；但 *CygoSTK* 基因在普通春兰唇瓣中的表达量显著高于‘天彭牡丹’（*LSD*，*P*＜0.05）。从 *CygoSTK* 基因在普通春兰和‘天彭牡丹’合蕊柱与子房中的表达量来看，其在普通春兰子房中的表达量显著高于‘天彭牡丹’（*LSD*，*P*＜0.05），但其在 2 个品种合蕊柱中的表达量无显著性差异。



注：**se**．花萼; **pe**．花瓣; **lip**．唇瓣; **an**．花粉团; **gy**．合蕊柱; **ov**．子房。

Note: **se**. Sepal; **pe**. Petal; **lip**. Labellum; **an**. Anther; **gy**. Gynostemium; **ov**. Ovary.

图 4 *CygoSTK* 基因在 2 个品种花器官中的表达比较

Fig.4 Comparison expression of *CygoSTK* gene in floral organs of two varieties

3 讨论

本研究获得了春兰与春兰奇花品种‘天彭牡丹’花器官发育相关的 1 个 MADS-box 基因 *CygoSTK*。氨基酸序列比对、蛋白质结构域和系统进化树分析表明，Cygo*STK* 蛋白均含有典型的 MADS 结构域和 K 结构域，是高度保守 D 类 MADS-box 蛋白。

在被子植物中，MADS-box 基因表达模式的变化多会对植物的生长发育产生重要影响（Kramer et al., 2004）。在模式植物拟南芥中，*STK* 基因主要在子房中表达，参与调控胚珠和种子的发育（Hundertmark et al., 2008）。在石蒜科（Amaryllidaceae）植物中国水仙（*Narcissus tazetta* var. *chinensis*）中 *STK-like* 基因 *NtSTK* 主要在雌蕊中表达（吴菁华等，2015）。在蔷薇科（Rosaceae）植物重瓣樱花‘普贤像’中，*STK* 同源基因 *PrseSTK* 在花萼、雄蕊和雌蕊中表达，其在花萼中异位表达导致重瓣樱花萼筒上着生异位子房，进而参与调控樱花单瓣与重瓣花的形态差异（刘志雄和李凤兰，2015）。在棕榈科植物油棕（*Elaeis guineensis*）中，其 *STK* 同源基因 *SHELL* 除参与调控果实形状发育外，还参与种子油脂的合成（Singh et al., 2013）。在兰科植物中，文心兰（*Erycina pusilla*）的 *STK* 同源基因 *EpMADS23* 在合蕊柱中的表达量显著高于其他花器官组织（Dirks-Mulder et al., 2017）。小屿蝴蝶兰（*Phalaenopsis equestris*）中 *STK-like* 基因 *PeMADS7* 仅在合蕊柱中表达，且表达时间相对较晚，*PeMADS7* 转基因拟南芥表现出早花、叶片向上弯曲以及种子

不育增加等现象（You et al., 2012）。木石斛（*Dendrobium crumenatum*）的 STK 同源基因 *DcOAG2* 在合蕊柱、子房和花粉团中检测到有表达，主要调控石斛兰子房的发育（Xu et al., 2010）。蝴蝶兰（*Dendrobium thyrsiflorum* ）的 *STK* 同源基因 *PhalAG2* 在唇瓣、蕊柱、子房中均有表达，该基因与 C 类基因共同调控着蝴蝶兰子房的发育（Song et al., 2006）。石斛兰的 *STK* 同源基因 *DthyrAG2* 在唇瓣、蕊柱和子房中均有表达，且其在胚珠晚期的发育中发挥着重要作用(Skipper et al., 2006)。

在本研究中，*CygoSTK* 基因主要在春兰的唇瓣、花粉团、合蕊柱和子房中表达，其中在子房中的表达量显著地高于其他花器官，表明 *CygoSTK* 基因对春兰子房的形成起着重要的调控作用。在奇花品种‘天彭牡丹’中，*CygoSTK* 基因主要在花萼，合蕊柱和子房中表达，*CygoSTK* 基因在‘天彭牡丹’花萼中表达量高可能与其花萼增多与形态变异相关，但具体的调控方式有待进一步研究。结合 *CygoSTK* 基因在 2 个春兰品种花器官的表达模式来看，其主要在合蕊柱和子房中表达，但其在子房中的表达量显著高于其他花器官，在春兰花发育过程中可能主要参与调控子房的发育。综上，*CygoSTK* 基因的表达在功能上具有很强的保守性，主要参与春兰子房的发育，同时对该基因的进一步研究对于春兰花器官形态改造及定向的培育具有重要参考价值。

参考文献：

CHEN JM, SONG JY, HE J, et al., 2016. Studies on the volatile components of *Cymbidium goeringii* and *Cymbidium faberi* in Qinling Mountains[J]. Acta Hortic Sin, 43 (12): 2461-2472. [陈君梅，宋军阳，何洁，等，2016. 秦岭地区春兰和蕙兰的花挥发性成分研究[J]. 园艺学报，43(12)：2461-2472.]

DIRKS-MULDER A, BUTOT R, VAN SP, et al., 2017. Exploring the evolutionary origin of floral organs of *Erycina pusilla*, an emerging orchid model system[J]. BMC Evol Biol, 23(3): 17-89.

Han YP, KANG KW, KIM DH, et al., 2018. *In vitro* propagation of *Cymbidium goeringii*, Reichenbach fil. through direct adventitious shoot regeneration[J]. Physiol Mol Biol Pla, 24(2): 307-313.

HUMDERTMARK M, HINCHA DK, 2008. LEA (Late Embryogenesis Abundant) proteins and their encoding genes in *Arabidopsis thaliana*[J]. BMC Genomics, 118(9): 1471-2164.

KRAMER EM, PLUSCA C, PLUS CL, 2019. The developmental evolution of flowers[J]. Curr Top Dev Biol, 131(12): 211-238.

LIU ZX, YU XN, 2012. Cloning of Japanese Late Sakura homeopathic gene PrseAP3 and its expression in single and double-flowered flowers[J]. Huazhong Agric U, 31(5): 578-583. [刘志雄，于先泥，2012 日本晚樱同源异型基因 *PrseAP3* 的克隆及其在单瓣与重瓣花中的表达分析[J]. 华中农业大学学报，31(5)：578-583.]

LIU ZX, LI FL, 2015. Comparison of the expression of *PrseSTK* in the ovule development in single and double-flowered flowers[J]. Bull Bot Res, 35(4): 535-539. [刘志雄，李凤兰，2015. 樱胚珠发育调控基因 *PrseSTK* 在单瓣与重瓣花中的表达比较[J]. 植物研究，35(4)：535-539.]

SALEMME M, SICA M, GAUDIO L, et al., 2013. The *OitaAG* and *OitaSTK* genes of the orchid *Orchis italica*: a comparative analysis with other C- and D-class MADS-box genes[J]. Mol Biol Rep, 40(5): 3523-3535.

SINGH R, LOW ET, OOI LC, et al., 2013. The oil palm *SHELL* gene controls oil yield and encodes a homologue of *SEEDSTICK* [J]. Nature, 500(7462): 340-344.

SKIPPER M, JOHANSEN LB, PEDERSEN KB, et al., 2006. Cloning and transcription analysis of an AGAMOUS- and SEEDSTICK ortholog in the orchid *Dendrobium thyrsiflorum* (Reichb. f.)[J]. Gene, 366(2): 266-274.

SONG IJ, NAKAMURA T, FUKUDA T, et al., 2006. Spatiotemporal expression of duplicate *AGAMOUS* orthologues during floral development in *Phalaenopsis*[J]. Dev Gene Evol, 216(6): 301-313.

WU JH, WU SH, YANG C, et al., 2015. Cloning, sequence and tissue expression analysis of *NtSTK* gene in *Chinese narcissus*[J]. Chin J Trop Crop, 36(10): 1820-1824.[吴菁华，吴少华，杨超，等，2015. 中国水仙 *NtSTK* 基因的克隆、序列和组织表达分析[J]. 热带作物学报，36(10)：1820-1824.]

XIANG L, CHEN Y, CHEN L, et al., 2018. B and E MADS-box genes determine the perianth formation in *Cymbidium goeringii* (Rchb. f.)[J]. Physiol Plant, 162(3): 353-369.

XU Y, TEO LL, ZHOU J, et al., 2010. Floral organ identity genes in the orchid *Dendrobium crumenatum*[J]. Plant J, 46(1): 54-68.

YOU YC, PEI FL, YU YH, et al., 2012. C- and D-class MADS-Box genes from *Phalaenopsis equestris* (Orchidaceae) display functions in gynostemium and ovule development[J]. Plant Cell Physiol, 53(6): 1053-1067.

ZUO LJ, YU L, CHEN B, 2017. Studies on rhizome multiplication and differentiation of *Cymbidium sinense* × *Cymbidium goeringii*[J]. Agric Biotechnol, 6(6): 22-25.